Aus dem Hygiene-Institut der Universität Rostock.
Direktor: Professor Dr. Th. v. Wasielewski.

Beobachtungen an Leuchtbakterien.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

hohen Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Hans Schubert

approbiertem Arzt aus Würzburg.

ROSTOCK
Druck von Winterbergs Buchdruckerei
1934.

Referent: Professor Dr. Th. v. Wasielewski.

Die Forschungen Gurwitsch's über seine mitogenetische Strahlung stellen eines der interessantesten Kapitel der neueren Biologie dar. Obwohl die bereits umfangreiche Literatur ernsthafte Zweifel an Existenz und Wirkungsweise dieser Strahlung nicht mehr zuläßt, so ist doch über ihre Entstehungsweise so gut wie alles noch ungeklärt. Hierüber Genaueres zu erfahren, ist ein dringendes Bedürfnis.

Daß lebende Organismen, u. a. auch Bakterien, Licht aussenden können, ist seit langem bekannt. Der Entstehungsmechanismus dieses Lichtes ist von einer großen Anzahl namhafter Forscher untersucht worden und erfuhr sehr widersprechende Deutungen. Doch entwickelte sich allmählich die auf Wahrscheinlichkeitsgründe gestützte Ansicht, daß das Bakterienleuchten eine Chemoluminiszenzerscheinung innerhalb des Bakterienleibes sei. Viele Beobachtungen wiesen dabei auf eine Mitbeteiligung von Enzymen am Leuchtprozeß hin.

Es war das Verdienst Molisch's (1) und Issatschenko's (2), die biologische Wertigkeit des Bakterienlichtes festzustellen, lange bevor Gurwitsch mit seinen Versuchen begann. Es gelang, Haferkoleoptilen zum Auskeimen zu bringen, Chlorophyllbildung zu erzeugen und phototropische Wachstumsbewegungen auszulösen.

Diese Analogien zur Gurwitschstrahlung sind sehr auffällig. Unwillkürlich gelangt man zu der Frage, ob nicht beiden Strahlungsarten im wesentlichen ähnliche Vorbedingungen zugrunde liegen mögen. Rein physikalische Ueberlegungen zeigen, daß der Unterschied in der Wellenlänge des Bakterienlichtes und der Gurwitschstrahlung kein prinzipieller ist, daß man vielmehr das Bakterienlicht als einen Sonderfall der Gurwitschstrahlung betrachten kann, der entweder als eine Erweiterung, oder auch als eine Verschiebung des emittierten Spektralbereichs ausgelegt werden könnte. Diese Auffassung betrachtet den Entstehungsmechanismus als einen einheitlichen, an besondere Lebensäußerungen geknüpften chemophysikalischen Vorgang. Während in einer solchen Vorstellung

beide Strahlungsarten als prinzipiell ebenbürtig dastehen und physikalisch als Luminiszenzlicht im engeren Sinne bezeichnet werden müssen, erscheint noch eine andere Betrachtungsweise zunächst als zulässig, wonach man das sichtbare Bakterienlicht als Fluoreszenzlicht (Sekundärstrahlung) auffassen kann, erzeugt durch Einwirkung der (primären) bakterieneigenen Gurwitschstrahlung unbekannter Aetiologie auf geeignete, fluoreszenzfähige Produkte des Bakterienstoffwechsels. Vom physikalischen Standpunkt aus erscheinen beide Möglichkeiten als gleich diskussionsfähig. Die dritte Möglichkeit endlich, daß nämlich beide Strahlungsarten ursächliche Zusammenhänge nicht aufweisen, braucht nicht besonders hervorgehoben zu werden.

Dieser Fülle von Problemen steht verwertbares Tatsachenmaterial nicht in einer zur Entscheidung ausreichenden Menge gegenüber. Die Fragestellung der Literatur war vorzugsweise eine chemische, und die erhaltenen Resultate sind zu physikalischer Auswertung wenig geeignet. Dazu kommt, daß den aus den Beobachtungen gezogenen Schlüssen eine überzeugende Beweiskraft teilweise nicht innewohnt. Dies gilt besonders von dem sog. »intrazellulären« Sitz des Leuchtens, der aus Beobachtungen gefolgert wurde, welche vielfach zwangloser für die Extrazellulartheorie hätten verwertet werden können. Einen stichhaltigen Beweis *gegen* die letztere kennt die Literatur nicht, wie schon ein kurzer Blick in die einschlägigen Kapitel der bakteriologischen Lehrbücher zeigt.

So wurde es zum Ziel dieser Arbeit, zweckdienliche Daten über die physikalische Seite des Leuchtbakterienproblems zu sammeln, als wesentliche Voraussetzung für die Untersuchung der eingangs auseinandergesetzten Fragen.

Als Testmaterial diente der in unserem Institut vorhandene *Vibrio Elvers* (im folgenden: V. E.). Er ist zwar etwas empfindlich gegen geringe Schwankungen in der Zusammensetzung des Nährbodens, hat aber gegenüber anderen Leuchtbakterien den Vorzug, sein Leuchtvermögen auch bei seltener Ueberimpfung zäh weiter zu vererben. Sein Licht ist deutlich grünlich, aber verhältnismäßig schwach. Als Nährboden diente in der Regel 3%iger Glyzerin-Agar.

Die genauere Kenntnis des Spektrums des Bakterienlichtes wäre wohl geeignet, Rückschlüsse auf den Entstehungsmechanismus zu gestatten. Doch liegen hierüber noch zu wenig Beobachtungen

vor. Wie Katz (3) zeigte, ist die Leuchtfarbe in erster Linie artbestimmt und durch die Zusammensetzung des Nährmediums wenig beeinflußbar; an tatsächlichen Wellenlängenbestimmungen finden sich jedoch nur die Resultate Ludwig's (4) und Molisch's (1). Dieselben ergeben für alle Bakterienarten ein kontinuierliches Spektrum, dessen Wellenlängenbereich verschieden ist und am langwelligen Ende bei Gelb oder Grün, am kurzwelligen Ende zwischen Grün und Violett endet, während sich das Maximum der Intensität ungefähr in der Mitte zwischen beiden Grenzen findet. Nach eigenen Beobachtungen erwies sich das Bakterienlicht als völlig unpolarisiert. Der Versuch, das Spektrum des V. E. photographisch festzuhalten, scheiterte völlig, wohl wegen der relativen Lichtschwäche der verwendeten Apparate, obwohl dabei jedes photographische Raffinement angewandt und die Expositionszeit mehrfach auf fünf Tage ausgedehnt wurde. Nach den Ergebnissen der spektroskopischen Untersuchungen verhält sich das bei der Bestrahlung mit dem gefilterten Licht einer Quarzlampe auftretende Fluoreszenzlicht als nur unwesentlich verschieden von der Fluoreszenz des Nährbodens. Diese Versuche erlauben keinerlei Urteil inbezug auf die obige Fragestellung. Doch gelang es, die Koexistenz einer Ultraviolettstrahlung, bereits von Molisch (1) flüchtig geprüft und verneint, beim V. E. sicherzustellen, die bei leuchtenden und nicht leuchtenden Kulturen in ungefähr gleicher Stärke auftritt. Die auf photographischen Platten hierdurch erzielte Schwärzung zwar war schwach, doch deutlich erkennbar, während mit Hefevergleichskulturen keine verwertbaren Schwärzungen zustande kamen.

Legt man unter Zwischenschaltung eines das sichtbare Licht absorbierenden Filters eine empfindliche photographische Platte über die Kultur, so tritt nach einiger Zeit eine photochemische Schwärzung ein. Zweckmäßig ist es, durch Zwischenschaltung eines Papierkreuzes eine unbelichtete Zone zu schaffen, um auf diese Weise ausgeprägte Kontraste zu erzielen. Der Deckel der Petrischale wird entfernt, Filter und Papierkreuz über die Kultur gelegt, darüber kommt die Photoplatte. (Filter: Kobaltglas von 2,12 mm Dicke; Photoplatte: Agfa-Isochrom; Expositionszeit: 5 Tage; Entwickelung möglichst hart.)

Nichtleuchtende Kulturen erhält man in der Regel bei Ueberimpfung auf Aeskulin-Agar. In beiden Fällen wird die Schwärzung gleich stark, um bis auf Spuren zu verschwinden, wenn der

Deckel der Petrischale nicht abgenommen wird. Durch geeignet untergebrachte photographische Kontrollplatten läßt sich das Zustandekommen der Schwärzung auf rein chemischem Wege, z. B. durch Gase, mit Sicherheit ausschließen.

Gerade diese Methode des Nachweises macht es strittig, ob man die so gefundene Strahlung als Gurwitschstrahlung auffassen darf. Bisher gelang es keinem der Forscher, mit Hilfe der Gurwitschstrahlen photographische Schwärzungen zu erzielen. Es tritt daher die Frage ein, ob nicht die Leuchtbakterien zwischen sichtbarem Licht und Gurwitschstrahlen ein langwelliges und verhältnismäßig intensives Ultraviolett aussenden. Ein solches könnte u. U. sehr wohl eine Fluoreszenzemission bewirken, dank seiner Intensität sogar besser als die sehr schwachen Gurwitschstrahlen. Die Wiederholung eines Spektrogrammes mit lichtstärkerer Quarzoptik könnte hier Klarheit schaffen.

Daß die Emission sichtbaren Lichtes auf manchen Nährböden geändert oder unterdrückt wird, ist seit langem bekannt und spricht gegen keine der drei Möglichkeiten. Es kann dies sowohl eine Angelegenheit der Wellenlänge als auch der Intensität sein. Ersteres ist der Fall bei der Beobachtung K. B. Lehmann's (5), der durch Variation des Kochsalzgehaltes die Leuchtfarbe beeinflußte. Aehnlich kann man durch Zugabe von Eosin zum Nährboden das Licht des V. E. ins Gelbliche abtönen, d. h. zu Beginn des Wachstums; die Farbe kehrt später zum rein Grünen zurück. Da Eosin gelbliche Eigenfluoreszenz besitzt, scheint dies für die Fluoreszenztheorie zu sprechen, ohne sie zu beweisen; immerhin wird es wahrscheinlich, daß solche Prozesse mitspielen können.

Viel krasser ist die Abhängigkeit der Intensität von äußeren Einflüssen, und die Einwirkung chemischer Faktoren ist so offenkundig, daß die Betrachtung des Leuchtprozesses als eines von stofflichen Umsetzungen bewirkten Vorganges hierin die hauptsächliche physikalische Stütze findet. Von diesen notwendigen Voraussetzungen für das Leuchten ist Anwesenheit von Sauerstoff die wichtigste und eingehend studiert. Unterhalb einer gewissen Sauerstoffspannung nimmt die Leuchtintensität bei allen Bakterien rasch ab, um nach den übereinstimmenden Ergebnissen von Harvey und Morrison (6) und Shoup (7) bei ca. 0,005 mm Hg Sauerstoffdruck unsichtbar zu werden. Die Abhängigkeit der Leuchtintensität vom Nährmedium fand Beijerinck (8 u. 9) durch

Zugabe von Glukose und Galaktose, ferner tritt sie klar zutage in den Angaben Lode's (10) über die absolute Leuchtintensität der Bakterien. Er bestimmte die Leuchtstärke des V. E. zu $0{,}766 \times 10^{-10}$ HK auf Fleischwasser-Pepton-Agar, zu $0{,}355 \times 10^{-9}$ HK auf Stockfisch-Agar pro mm^2 Leuchtfläche. Die Angaben Friedberger's und Doepner's (11) über Intensitätszunahme durch Zugabe von Schimmelpilzen oder Schimmelpilzextrakten gehören ebenfalls hierher. Leuchten ist nach Chodat et Coulin (12), Fuhrmann (13), Hill and Shoup (14) nur bei einem gewissen p_H des Nährbodens möglich; Anwesenheit freier Säure bringt leuchtende Kulturen zum Erlöschen, Abpufferung der Säure stellt das Leuchten wieder her.

Chemische und physikalische Einflüsse, die das Leben der Kolonien vorübergehend lähmen, unterbrechen während der Zeit der Einwirkung auch das Leuchten. Solche Effekte kann man nach Ballner (15) durch Zugabe von Aether und Chloroform erzielen, während Bakterienaufschwemmungen, die zur Agglutination gebracht worden waren, weiterleuchten. Aehnlich stellen Kulturen, die kalt aufbewahrt werden, während dieser Zeit ihr Leuchten ein, um bei Rückkehr zu normalen Temperaturen erneut zu leuchten; so beobachtete dies Macfadyen (16) bei Leuchtvibrionen, die er sechs Monate in flüssiger Luft aufbewahrt hatte. Tierpassage hatte nach Kutscher (17) keinen Einfluß auf das Leuchtvermögen der Nachkommenschaft.

So sehr auch nach all dem sich die Folgerung aufzudrängen scheint, daß das Bakterienlicht die direkte Folge von Stoffwechselvorgängen im Sinne der Erzeugung eines Leuchtstoffes darstellt, so wäre trotzdem ein solcher Schluß übereilt. Die beschriebenen Voraussetzungen sind für das Zustandekommen des Leuchtens wohl notwendig, aber nicht hinreichend. Dieser Tatsache suchten auch die früheren Autoren durch die Hilfsannahme eines (Endo-) Enzyms gerecht zu werden. Vom physikalischen Standpunkt aus wird hierdurch an der ganzen Auffassung des Leuchtprozesses wenig Prinzipielles geändert. Zudem fehlt dieser Enzymtheorie noch immer die überzeugende Grundlage; seit Gerretsen (18) mit einfachen chemischen Hilfsmitteln sterilen Nährboden zum Leuchten brachte, wobei sich anscheinend grundsätzlich ähnliche Vorgänge abspielen wie beim Bakterienleuchten, läßt sich gegen die Enzymtheorie viel einwenden, obwohl er sie selbst eifrig verficht; zum mindesten liegt der Gedanke nahe, ob angesichts

dieser Versuche das hypothetische Enzym nicht auch aus dem Nährboden stammen kann.

Der ganze Fragenkomplex wird noch verwickelter. So, wie die Resultate der chemischen und biologischen Untersuchung für die direkte Abhängigkeit des Leuchtens von den übrigen Lebensvorgängen der Leuchtbakterien zu sprechen scheinen, so sprechen die physikalischen dagegen.

Praktisch am wichtigsten und daher eingehend studiert sind die Einwirkungen der Temperatur. Zwar liegt die obere Grenze für Wachstum und Leuchten, wie alle Autoren übereinstimmen, bei ca. + 40 ° C., auch bei V. E. Wenn nun auch die Leuchtbakterien keine gemeinsame optimale Temperatur aufweisen, so ist es trotzdem eine allen gemeinsame Eigentümlichkeit, daß das Wachstumsoptimum mehrere (4 ° bis 14 °) Temperaturgrade höher liegt als das Leuchtoptimum, während das Leuchten noch bei Temperaturen bestehen kann, bei denen sich ein Wachstum nicht mehr feststellen läßt. So beobachtete K. B. Lehmann (5) Leuchten noch bei — 12 °. Im einzelnen sind diese Verhältnisse genauer geschildert von K. B. Lehmann (5), Kutscher (16), in neuerer Zeit besonders von Morrison (19). V. E. speziell benahm sich, wahrscheinlich infolge unbeabsichtigter Schwankungen in der Zusammensetzung des Nährbodens, etwas launisch; in der Regel ließ sich unterhalb 8° weder Wachstum noch Leuchten feststellen. Es verdient betont zu werden, daß sich diese Diskrepanz zwischen Leuchten und Wachstum auch bei Einwirkung anderer physikalischer Einflüsse nachweisen läßt. Zwar scheinen die Leuchtbakterien ziemlich unempfindlich gegen Strahlen jeder Art. So berichtet Kutscher (16) über die Wirkungslosigkeit diffusen Tageslichtes auf Wachstum und Leuchten, was auch für V. E. gilt, und Harvey (20) fand kurzzeitige Bestrahlung mit einer 15000 Lux starken Lichtquelle ohne Einfluß auf die Leuchtintensität. Ebenso wirkungslos blieb bei V. E. zweistündige Bestrahlung mit dem durch Filterung monochromatisierten Rotlicht einer 5-ampèrigen Bogenlampe und einstündige Bestrahlung mit dem Licht einer 2-ampèrigen Jänicke-Quarzlampe, wenn das oben beschriebene Kobaltglasfilter vorgeschaltet war. Erst nach Entfernung dieses Filters und des Glasdeckels der Petrischale führte zweistündige Bestrahlung mit dieser Lampe aus 30 cm Abstand jenen »nekrobiotischen« Zustand herbei, den Gerretsen (18) und Beijerinck (21) auf ähnliche Weise, aber außerdem auch durch genügend lange Einwirkung von

direktem Sonnenlicht oder Radium- bzw. Mesothoriumstrahlen erzielten. Hierbei besteht das Leuchten, wenn auch mit Intensitätsverlust, weiter, während die Ueberimpfbarkeit erloschen ist. Es ist wieder jene Diskrepanz zwischen Leuchten und Wachstum, die darauf hinweist, daß das Leuchten ganz besonderen, nicht den übrigen Lebensbedingungen eigentümlichen Gesetzen folgt und also vom vitalen Geschehen unabhängig sein muß.

Für die Zahl der durch die Bestrahlung getöteten Keime stellt Gerretsen eine mit der Zeit anwachsende Kurve auf. Man ist erstaunt über den einfachen Verlauf derselben und ihre Aehnlichkeit mit den Schwärzungskurven photographischer Platten, bei denen die Lichtmenge als Abszisse, der dadurch erzielte Schwärzungseffekt als Ordinate aufgetragen wird. Die auch sonst in ähnlichen Fällen übliche Anwendung der Schlußfolgerung, daß gleichverlaufenden Kurven analoge Prozesse zugrunde liegen müssen, könnte vielleicht auch in diesem Falle neue Aufschlüsse liefern.

Das Bakterienlicht hingegen folgt dieser Kurve in keiner Weise, sondern hält vielmehr noch stundenlang an; im Falle des V. E. war es noch nach drei Stunden sichtbar. Und obwohl die Bakterien selbst als völlig abgetötet betrachtet werden müssen, gehorcht das Licht noch den beschriebenen chemischen Einflüssen! Die Vorstellung des Leuchtprozesses als eines vitalstoffwechselbedingten Vorgangs wird dadurch schwer erschüttert.

Hier ist es am Platze, die biologischen Artverschiedenheiten des Bakterienleuchtens zu streifen, die davor warnen müssen, den Leuchtprozeß als überall gleich aufzufassen. Während das nekrobiotische Leuchten der einen Art lediglich Intensitätsabnahme aufweist, erreichte Gerretsen bei einer anderen deutliche und länger anhaltende Intensitätszunahme, wenn auch nicht regelmäßig. V. E. dagegen erfuhr nicht nur eine Intensitätseinbuße, sondern auch eindeutigen Farbumschlag ins Gelbliche, verglichen mit Kontrollkulturen. Lediglich vom physikalischen Gesichtspunkt, ohne Berücksichtigung biologischer und chemischer Momente sind diese Beobachtungen natürlich nicht zu erklären.

Die kritische Zusammenfassung all dieser Resultate war geeignet, an der Richtigkeit der »Intrazellulartheorie« (ein aus der älteren Literatur übernommener Ausdruck) Zweifel zu erwecken. Die älteren Autoren glaubten zwar, sie mit einfachen Versuchen bestätigen zu können. Impft man z. B. von einer Platte ab, so leuchtet das Material an der Oese, während der Nährboden dunkel

wird. Oder filtriert man eine Suspension leuchtender Bakterien, so wird das Filtrat lichtlos, während die Bakterien weiterleuchten. Alles sehr einfache Versuche, die aber so überzeugend wirken, daß sie Lehmann-Neumann (22) als Standardbeweise für die Intrazellulartheorie bringen. Natürlich zeigte auch V. E. das gleiche Verhalten, nicht einmal die Vermischung des so gewonnenen Filtrates mit sterilem Nährboden führte zum Leuchten.

Andererseits verläuft die Entwickelung des Leuchtens bei V. E. so eigenartig, daß hierin eine Bestätigung der Extrazellulartheorie erblickt werden kann. Zunächst zwar strahlt der Impfstrich, der ungefähr 4 bis 8 Stunden nach der Ueberimpfung zu leuchten beginnt, an allen Stellen mit gleicher Intensität. Aber bald, ungefähr gegen Ende des zweiten Tages, verliert das Innere des Impfstriches an Intensität derart, daß die Randzonen als kräftig leuchtende Säume das weit schwächer leuchtende Innere umgeben. Diese Erscheinung, dem Auge anfangs nur schwer erkenntlich, wird mit fortschreitendem Wachstum immer deutlicher und kann unter besonderen Verhältnissen so weit führen, daß das Zentrum völlig lichtlos erscheint. Dieser Verlauf ist absolut regelmäßig und tritt bei photographischer Aufnahme noch deutlicher als bei direkter Betrachtung hervor, sodaß man nicht nur Intensitätsunterschiede, sondern auch Wellenlängenunterschiede zwischen Zentrum und Leuchtsaum vermuten muß — eine Ueberlegung, die sich wie alle spektralen Untersuchungen der Nachprüfung entzog. Daß der Rand, also die verhältnismäßig dünneren Stellen der Kolonien, stärker leuchtet als die dickeren, an lebendiger Bakterienmasse reicheren Gebiete des Inneren, muß wieder als Bestätigung der Diskrepanz zwischen Leuchten und Wachstum aufgefaßt werden. Chemische Differenzen zwischen beiden Gebieten, wie sie etwa der Stoffwechsel bedingt, würden dieses Phänomen teilweise erklären können. Zur Ueberwachung dieses Verlaufs wurde der Weg der Serienaufnahmen gewählt derart, daß eine leuchtende Kultur in ihrem eigenen Licht 24 Stunden mit einer Kamera geringer Lichtstärke und zweifacher Vergrößerung photographiert wurde. Bevor nun die nächste derartige Aufnahme begann, wurde eine mit der gleichen Kamera aufgenommene Kunstlichtaufnahme eingeschoben, zu der ein geeignet aufgestelltes Glühlampenpaar verwandt wurde. Auf diese Weise wurde der direkte Vergleich des Verlaufs des Wachstums mit der Entwickelung des Leuchtens ermöglicht.

Mit dieser Versuchsanordnung wurden ca. 20 Aufnahmepaare angefertigt und unter dem Meßmikroskop ausgewertet. Hierbei ergab sich auf allen Platten, soweit sie am zweiten Tage nach der Ueberimpfung und später erhalten wurden, das auffällige Resultat, daß in der überwiegenden Mehrzahl der Meßpunkte die Leuchtbreite die Wachstumsbreite übertrifft. Die dabei auftretenden Differenzen bewegen sich in der Größenordnung 0,1 bis 0,2 mm. Daneben finden sich verhältnismäßig häufig Stellen, an denen Wachstums- und Leuchtbreite gleich sind, es scheinen sogar Fälle vorzukommen, wo die Leuchtbreite kleiner wird; da letzteres nur an jenen Stellen der Fall ist, wo eine genaue Breitenbestimmung durch den zu geringen Schwärzungsgrad nicht möglich war, mag eine eingehende Diskussion dieser Werte unterbleiben. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß der Leuchtsaum meistens zur Hälfte seiner Breite innerhalb des Wachstumsrandes, zur andern Hälfte außerhalb liegt; es ist leicht, sicher festzustellen, daß hieran das während der langen Belichtungszeit stattfindende Wachstum nicht allein schuld sein kann. Interessant ist die Beobachtung, daß die Breite eines Leuchtsaumes während der ganzen Entwickelungszeit und trotz der durch das vordringende Wachstum herbeigeführten Verschiebung konstant bleibt. Leider mußte aus technischen Gründen die Beifügung von Reproduktionen im Druck unterbleiben. Diese Erscheinungen finden sich im Widerspruch mit der Intrazellulartheorie, deren Gültigkeit fordern würde, daß sich die Wachstumsränder an allen Orten vollkommen mit dem Leuchtrand decken müßten. Im Gegenteil kommt man zu der Feststellung, daß das Leuchten selbst garnicht direkt an den Bakterienleib gebunden ist. Aehnliche Beobachtungen finden sich bereits in der älteren Literatur. Während Molisch (1) versucht, die leuchtende Randzone als Lichtreflex zu deuten — ein Erklärungsversuch, der durch den oben geschilderten Kurvenverlauf genügend widerlegt erscheint — können die »Auxanogramme« Beijerinck's (8 u. 9) nunmehr wohl ohne Bedenken zur Bestätigung der von ihm abgelehnten Extrazellulartheorie herangezogen werden. Dieselben geben das oben Geschilderte fast identisch wieder. Daß er trotzdem darin eine Bestätigung seiner Theorie erblickte, lag an der Art seiner Versuchsanordnung. Er verwandte Kulturen, die in einem festen Nährboden gleichmäßig verteilt waren und infolge völligen Verbrauchs der nötigen Substanzen Wachstum und Leuchten eingestellt hatten. Durch Zugabe geeigneter Stoffe

trat neues Wachstum in Form neuer Einzelkolonien ein, die sich mit einer teilweise schwächer, teilweise stärker als das Zentrum leuchtenden Randzone umgaben. Obwohl nun gerade an den Stellen stärksten Leuchtens kein Wachstum wahrnehmbar wurde und obwohl Beijerinck selbst die Volumzunahme der Bakterien als wesentliche Voraussetzung für ihr Leuchten ansieht, konnte er sich nicht entschließen, die Intrazellulartheorie zu verlassen, da er die Mitbeteiligung der übrigen nicht sichtbar gewachsenen Bakterien am Leuchtprozeß nicht ausschließen konnte.

Ein ähnlicher Einwand kann gegen die Deutung der beim V. E. gefundenen Ergebnisse erhoben werden. Es ist nicht ohne weiteres abzulehnen, daß nicht die Impfstriche bzw. Einzelkolonien von einem Saum neu gewachsener Bakterien umgeben werden, der zu fein ist, um sichtbar zu werden. Dieser Gedanke entspricht im wesentlichen der Vorstellung Beijerincks, muß aber aus zwei Gründen als äußerst unwahrscheinlich abgelehnt werden. Wenn nämlich die Impfstriche bezw. Einzelkolonien in einem gewissen Zeitpunkt ihr Wachstum einstellen, so bleibt der Leuchtsaum erhalten, ohne daß an diesen Stellen irgend eine Bakterienvermehrung zu beobachten wäre. Es ist schwer vorstellbar, daß solch jugendliche Kolonien, ohne zu wachsen, einen so lebhaften Stoffwechsel aufweisen, wie er zur Aufrechterhaltung eines intensiven Leuchtens doch wohl vorauszusetzen ist. Ferner konnte in einer eingehenden physikalischen Untersuchung des Leuchtsaumes nichts gefunden werden, was für die Existenz einer solchen unsichtbaren Randzone sprechen würde. Es sind weder Aenderungen des Brechungsindex, noch Doppelbrechung, noch Drehung der Polarisationsebene, noch wesentliche Verschiebungen in den Lichtabsorptionsverhältnissen nachweisbar. Veränderungen in der elektrischen Leitfähigkeit hielten sich unterhalb der Fehlergrenze der Versuchsanordnung (ca. 5 %).

So dürfen die beim V. E. gefundenen Ergebnisse im Zusammenhang mit den Beijerinck'schen Auxanogrammen heute doch wohl als eine Bestätigung der Extrazellulartheorie verwertet werden. Ob es daneben noch ein intrazelluläres Leuchten gibt, bleibt eine offene Frage.

Es ist noch zu betonen, daß die Methodik eine absolute Regelmäßigkeit der Differenz zwischen Wachstums- und Leuchtbreite von selbst ausschließt. Wenn man bedenkt, daß die Photographie des Bakterienlichtes die Summe der in 24 Stunden

erhaltenen Lichteindrücke darstellt, während sich die Kunstlichtaufnahme auf einen einzigen, noch dazu später gelegenen Augenblick bezieht, so kann man sich vorstellen, daß durch diese Versuchsanordnung kleinere Differenzen gefunden werden, als sie der Wirklichkeit entsprechen. Ferner spielt sicherlich die physikalisch-chemische Beschaffenheit des Nährbodens eine große Rolle für das Zustandekommen der Leuchtsaumbreite und die Wachstumsgeschwindigkeit. Es dürfte jedoch vorläufig unmöglich und im Hinblick auf das Fehlen geeigneter Prüfungsmethoden unkontrollierbar sein, diese Faktoren konstant und reproduzierbar zu gestalten.

Ueberblickt man diese gesamten Ergebnisse, so läßt sich zunächst nur aussagen, daß der Leuchtprozeß unter Mitbeteiligung der Bakterien hauptsächlich im Nährboden stattfindet. Keineswegs ist dieses Resultat eine Bestätigung für die Existenz eines Leuchtstoffes, der etwa im Bakterienleib präformiert und bereits leuchtend in die Umgebung abgesondert würde. Dies läßt sich durch die Beschaffenheit der Randzone beweisen, die fast völlig scharf umrissene Begrenzung zeigt. Im Falle des Diffusion eines Stoffes nimmt dessen Konzentration in Abhängigkeit vom Abstand von der Quelle ab. Der Leuchtstoff, der diesem Gesetz natürlich folgen müßte, würde dementsprechend ein nach außen stetig abnehmendes Leuchten bewirken müssen und könnte niemals in so scharfer Grenze abschneiden. Ferner müßte ein solcher Stoff die Eigentümlichkeit besitzen, in den stark wasserhaltigen Nährböden trotz ihrer hohen Viskosität in Lösung zu gehen, ohne sich jedoch in gewöhlichem Wasser lösen zu können, wie es bei den Filtrationsversuchen deutlich wird. Beides spricht entschieden gegen die Absonderung eines solchen Leuchtstoffes.

Ebenso wird die Fluoreszenztheorie hierdurch wenn nicht widerlegt, so doch unwahrscheinlich. Falls nämlich etwa das Leuchten durch eine ultraviolette (Gurwitsch-?) Strahlung verursacht wäre, so müßte die Intensität in ähnlicher Weise wie im Falle der Diffusion nach außen abnehmen. Ferner ist die beobachtete Ultraviolettstrahlung zwar ziemlich intensiv, müßte aber wohl noch wesentlich intensiver sein, um die alleinige Ursache des Leuchtens abgeben zu können. Endlich zeigt die durch Quecksilberlicht hervorgerufene Eigenfluoreszenz des Nährbodens eine ganz andere Färbung als das Bakterienlicht. Immerhin ist es vorstellbar, daß durch Fluoreszenzvorgänge, die von der

Chemoluminiszenz ausgelöst würden und ihr parallel liefen, etwa die Leuchtfarbe modifiziert würde.

Man wird durch diese scharfe Randbildung lebhaft an jene Grenzschichten erinnert, die bei chemischen Versuchen (z. B. Ueberschichtung) der Sitz der chemischen Umwandlung sind, und die Annahme, daß diese Leuchtzone lediglich der Ausdruck chemischer Vorgänge zwischen zwei (oder mehreren) verschieden gearteten Stoffen sei, könnte alle Erscheinungen befriedigend erklären. Ueber die Natur dieser Stoffe etwas auszusagen, ist Aufgabe der Chemie. Daß auch die Technik an der Klärung dieser Frage Interesse haben muß, hat Molisch bereits hervorgehoben; erfüllt doch der Chemismus des Bakterienleuchtens jenes Idealziel des Beleuchtungsfachmanns, die Erzeugung eines von Wärmestrahlen freien, kontinuierlichen Spektrums.

Es mag schwer vorstellbar erscheinen, daß sich chemische Umsetzungen im Nährboden in so scharfer Grenze vollziehen sollen, zumal wenn man an das Beispiel der Säurebildner denkt, deren Stoffwechselprodukte im kolloiden Medium die Diffusionsgesetze streng erfüllen, wie es ja das Weiterschreiten der Lakmusrötung sichtbar macht. Demgegenüber sei an das Beispiel der Gelatineverflüssigung erinnert, bei der sich flüssige und unverflüssigte Phase in scharfer Grenze scheiden, wo man doch auf Grund der Diffusionsgesetze eine Zone des Uebergangs, einer allmählichen Erweichung erwarten müßte.

Man ist geneigt, aus der Randzonenbildung auf eine wesentliche Bedeutung des Bakterienalters für das Zustandekommen des Leuchtsaumes zu schließen derart, daß der besonders geartete Stoffwechsel einer jüngeren Randzone die geeigneten chemischen Vorbedingungen schüfe. Doch läßt sich diese Frage vorläufig noch nicht entscheiden. Man muß wohl annehmen, daß Wachstum, also Bildung neuer Individuen, auch in der Mitte des Impfstrichs bzw. der Einzelkolonien stattfindet. Nun ist es möglich, das schwächere Leuchtvermögen der Strich- bzw. Kolonienmitte auf eine weniger intensive Bildung solcher neuer Individuen zu beziehen. Andererseits kann man jedoch das Hauptgewicht auf die Einflüsse des Nährbodens legen. In diesem Falle würde die Randzone als Stelle noch unverbrauchten reaktionsfähigen Materials gedeutet werden müssen. Das starke Leuchten der Strichmitte während der ersten 24 Stunden könnte sowohl auf die Anwesen-

heit zahlreicher neu gebildeter Bakterien als auch auf die unverbrauchten Materials zurückgeführt werden.

Bisher ist es noch nicht gelungen, chemische Veränderungen beim Bakterienleuchten nachzuweisen, obwohl Radziszewski (23) die bei der Chemoluminiszenz zahlreicher Stoffe auftretenden Umsetzungen teilweise in ihren Einzelheiten verfolgte. Daß auch die physikalischen Veränderungen schwer faßbar sind, geht daraus hervor, daß die Untersuchungen des Leuchtsaumes auf die Anwesenheit eines unsichtbaren Wachstumsrandes keinerlei Resultate zeitigten, wie ja bereits oben gezeigt wurde.

Anläßlich der elektrischen Versuche wurde erstmalig festgestellt, daß die Einführung gut gesäuberter, ausgeglühter Platinelektroden thermoelektrische Spannungen im Glyzerin-Agar auslöst, die je nach der Temperatur der Elektroden zwischen 1×10^{-3} bis 1×10^{-5} Millivolt schwanken. Dieser Effekt kann vielleicht in einer später einzuführenden physikalischen Prüfung der Nährböden bedeutungsvoll werden; durch die Anwesenheit leuchtender Vibrionen wurde er nicht merklich beeinflußt.

Zusammenfassend kann man also sagen:

1. Das Bakterienleuchten ist wohl hauptsächlich ein extrazellulärer Prozeß, der durch chemische Umsetzungen erzeugt wird.

2. Neben dem sichtbaren Licht besitzen die Leuchtvibrionen noch eine verhältnismäßig intensive Ultraviolett-Strahlung unbekannter Aetiologie.

Literatur.

1. Molisch, H.: Leuchtende Pflanzen. Jena 1904.
2. Issatschenko: C. II. Bd. 10 (1903) 497—99. C. II. Bd. 19 (1907) 116—17.
3. Katz, O.: C. I. (1891) Bd. 9, 156—63 und Fortsetzungen.
4. Ludwig, F.: C. I. Bd. 2 (1887) 373—76, 401—06.
5. Lehmann, K. B.: C. I. Bd. 5 (1889) 785.
6. Harvey, E. N., and Morrison, Th.: J. of gener. Physiol. Bd. 6 (1923) 13; ref. C. I. Bd. 76 (1924) 480.
7. Shoup, Ch. S.: Proc. Soc. for Exper. Biol. a. M. Bd. 25 (1928) S. 570 bis 72; ref. C. I. Bd. 92 (1929) 422.
8. Beijerinck, M. W.: C. I. Bd. 6 (1889) 47.
9. „ „ C. I. Bd. 8 (1890) 653.
10. Lode, A.: C. I. Bd 35 (1904) 524.
11. Friedberger, E., und Doepner, H.: C. I. Bd. 43 (1907) 1—7.
12. Chodat et de Coulin: Arch. des Sciences phys. et nat. (1926) 257; ref. C. II. (1920) Bd. 51, 231.
13. Fuhrmann: Verhdlg. d. 85. Vers Deutsch. Naturf. u. Aerzte Wien Teil 2, I. Hälfte, S. 638, Leipzig 1916.
14. Hill, S., and Shoup, Ch. S.: J. of Bacter. Bd. 18 (1929) S. 95—99 ref. C. I. Bd. 98 (1930) 129.
15. Ballner: C. II. Bd. 19 (1907) 572.
16. Macfadyen, A.: Proc. Roy. Soc. Vol. LXXI (1902) Aug. 2; ref. C. I. Bd. 34 (1904) 734
17. Kutscher: C. I. Bd. 15 (1894) 44. Autoreferat a. d. D. M. W. (1893) Nr. 49.
18. Gerretsen: C. II. Bd. 52 (1920) 353—73. C. II. Bd. 44 (1915) 660.
19. Morrison, Th.; J of gener. Physiol. Bd. 7 (1925) 761; ref. C. I. Bd. 80 (1925/6) 522.
20. Harvey, E. N.: J. of gener. Physiol. Bd. 7 (1925) 687; ref. C. I. Bd. 80 (1925/6) 521.
21. Beijerinck, M. W.: Folia mikrobiologica Jahrg. 4 (1915) H. 1; ref. C. I. Bd. 65 (1917) 433.
22. Lehmann-Neumann: Bakteriologische Diagnostik Bd. 2, S. 60—62. München 1927.
23. Radziszewski: Liebigs Annalen d. Chemie Bd. CCIII. (1880) 305.

Ausführliche Literaturzusammenstellungen siehe unter 1. und 3. Ausserdem vergleiche Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. I, 1 S. 95. Ferner Heim, Lehrbuch der Bakteriologie, 6. und 7. Auflage, Stuttgart 1922, S. 268—70.

Anmerkung: „C. I." = Centralblatt für Bakteriologie. „C. II." = Landwirtschaftliche Abteilung desselben.

Lebenslauf.

Am 14. März 1906 wurde ich, Hans Schubert, geboren als Sohn des Lehrers J. V. Schubert und seiner Ehefrau Carola, geb. Binder, zu Würzburg. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule und Abschluß der neunjährigen Gymnasialzeit trat ich mit dem Reifezeugnis des humanistischen Gymnasiums zu Würzburg an die Universität über, wo ich mich im Sommersemester 1925 zunächst dem Studium der Physik zuwandte. Ein Jahr später begann ich daneben mit dem Medizinstudium, um es nach Ablauf des fünften Studienjahres als Hauptfach weiterzuführen und im Sommersemester 1931 mit dem Staatsexamen abzuschließen. Meine Medizinalpraktikantenzeit absolvierte ich zu je einem Drittel an der Orthopädischen Universitätsklinik zu Würzburg, an der Unterfränkischen Heil- und Pflegeanstalt Werneck und an der Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Ulm a. D. Nach Erlangung der Approbation begann ich im August 1932 meine Tätigkeit als Assistent am Hygiene-Institut der Universität Rostock.